



TITLE:

アストロサイトからiPS細胞へのリ  
プログラミング過程の解析(  
Abstract\_要旨)

AUTHOR(S):

小山(中島), 明

---

CITATION:

小山(中島), 明. アストロサイトからiPS細胞へのリプログラミング過程  
の解析. 京都大学, 2016, 博士(生命科学)

ISSUE DATE:

2016-03-23

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.r13027>

RIGHT:

許諾条件により本文は2017-01-01に公開

|  |                               |    |          |
|--|-------------------------------|----|----------|
| 京都大学   | 博士（生命科学）                      | 氏名 | 小山（中島） 明 |
| 論文題目   | アストロサイトからiPS細胞へのリプログラミング過程の解析 |    |          |
| <p>（論文内容の要旨）</p> <p>体細胞は、特定の転写因子を導入することで、胚性幹細胞（ES細胞）と同等の自己複製能と多分化能を持つ人工多能性幹細胞（iPS細胞）へとリプログラミングされる。これまでに細胞リプログラミング過程における遺伝子発現の変化やエピジェネティックな変化が数多く報告されている。しかしながら、細胞リプログラミングの過程が通常の発生・分化の過程を遡るのかについては十分に明らかにされていない。特に、分化した細胞が自身の元となった組織幹細胞・前駆細胞の状態を経由してリプログラミングされるのかどうかはほとんどわかっていない。本研究において申請者は、神経系の分化細胞の一つであるアストロサイトからリプログラミングを誘導し、神経幹細胞様状態を経由してiPS細胞になることを明らかにした。マウスのアストロサイトから、Oct3/4、Klf4、Sox2、c-Myc(以下OKSM)の4因子だけではなく、Oct3/4、Klf4、Sox2（以下OKS）またはOct3/4、Klf4(以下OK)の組み合わせによっても、iPS細胞を作製した。次に免疫染色を用いて、神経幹細胞特異的な転写因子Sox1がリプログラミング過程で一過的に発現することを見出した。さらに、<i>Sox1</i>-GFPレポーターマウス由来のアストロサイトを用いたところ、リプログラミング過程において<i>Sox1</i>-GFP陽性細胞が出現することが示された。リプログラミング過程で<i>Sox1</i>-GFP陽性となった細胞をFACSにより採取し培養を続けると、iPS細胞に変化することを見出した。これらの結果から、Sox1がアストロサイトのリプログラミングの途中段階のマーカーであることが示された。Sox1のノックアウトは、OKSMおよびOKSを用いたリプログラミングの効率には影響を与えなかったが、OKを用いたリプログラミングの効率を劇的に減少させた。この結果は、OKを用いたリプログラミングの際には、Sox1がSox2の代わりに機能し、アストロサイトのリプログラミングを促進することを示唆している。また、マイクロアレイ解析を行うことにより、アストロサイトのリプログラミング過程においてSox1陽性となった細胞の遺伝子発現プロファイルが神経幹細胞に類似していることを見出した。さらに、リプログラミング過程の細胞は、ニューロンとグリア細胞の両方に分化することのできるニューロスフィアを形成することができた。これらの結果から、アストロサイトのリプログラミング過程の細胞は、遺伝子発現と分化能という点で神経幹細胞に類似していることが示唆された。一方で、マウスの胎仔繊維芽細胞（MEF）からiPS細胞を誘導した場合は、Sox1の発現上昇は見られなかった。さらに、MEFのリプログラミング過程の細胞は、ニューロンやグリア細胞に分化することのできるニューロスフィアを形成することができなかった。以上の結果は、MEFのリプログラミング過程においては神経幹細胞様状態を経由しないことを示している。本研究により、アストロサイトが神経幹細胞様状態を経由してiPS細胞へとリプログラミングされることが明らかとなり、分化細胞が組織幹細胞・前駆細胞の状態を経由して多能性を獲得すること、リプログラミング過程が部分的に発生・分化過程を逆行することが示唆された。</p> |                               |    |          |

(論文審査の結果の要旨)

申請者はアストロサイトからiPS細胞への細胞リプログラミング過程を解析し、アストロサイトが神経幹細胞様状態を経由してiPS細胞へとリプログラミングされることを明らかにした。これまでに細胞リプログラミングの過程が胚発生過程を遡るのかについては明らかにされていなかった。特に、分化した細胞が自身の元となった組織幹細胞・前駆細胞の状態を経由してリプログラミングされるのかどうかはほとんどわかっていなかった。そこで申請者は、グリア細胞の一つであるアストロサイトからのリプログラミング過程において、神経幹細胞の状態を示すのかについて解析を行った。申請者はまず、マウスのアストロサイトから、Oct3/4、Klf4、Sox2(以下OKS)またはOct3/4、Klf4(以下OK)の組み合わせを用いて、iPS細胞を作製した。申請者は、神経幹細胞特異的な転写因子Sox1に着目し、アストロサイトのリプログラミング過程におけるSox1の発現を免疫染色と*Sox1*-GFPレポーターマウス由来の細胞を用いて解析した。その結果、Sox1がアストロサイトのリプログラミング過程で一過的に発現し、Sox1陽性となった細胞が将来iPS細胞になる運命にあることを見出した。さらにSox1ノックアウト細胞を用いた解析により、Sox1の発現上昇が、OKS+c-Myc(OKSM)およびOKSを用いたリプログラミングの効率には影響を与えないが、OKを用いたリプログラミングには必要であることを明らかにした。次に申請者は、アストロサイトのリプログラミング過程においてSox1陽性となった細胞について、マイクロアレイ解析を行った。その結果、アストロサイトのリプログラミング過程の細胞が、神経幹細胞に類似した遺伝子発現プロファイルを示すことを見出した。さらに、リプログラミング過程の細胞が神経幹細胞と同様の分化能を示すのかについて解析した結果、リプログラミング中期の細胞がニューロンとグリア細胞の両方に分化することのできるニューロスフィアを形成することができることを示した。これらの結果は、アストロサイトのリプログラミング過程の細胞が、遺伝子発現と分化能という点で神経幹細胞に類似していることを示すものである。さらに申請者は、マウスの胎仔繊維芽細胞(MEF)からのリプログラミング過程を解析した。その結果、MEFのリプログラミング過程の細胞は、Sox1を発現せず、ニューロンやグリア細胞に分化するニューロスフィアを形成することができないことを見出した。以上の結果は、MEFのリプログラミング過程においては神経幹細胞様状態を経由しないことを示している。これら一連の研究成果は、分化細胞が組織幹細胞・前駆細胞の状態を経由して多能性を獲得すること、リプログラミング過程が部分的に発生・分化過程を逆行する可能性を示唆するものである。本論文は、リプログラミングの分子機構の解明に大きく貢献するものである。したがって、生命科学に関する高度で幅広い学識、専攻分野における優れた研究能力、生命科学の理解・発展に寄与する新しい発見が示されていると判断できる。また、本論文は、論理的かつ一貫性を持って記述されていた。以上より、本論文は博士(生命科学)の学位論文として価値あるものと認めた。また、平成28年1月8日に論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果、申請者を合格と認めた。

論文内容の要旨及び審査の結果の要旨は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。特許申請、雑誌掲載等の関係により、学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。(ただし、学位規則第8条の規定により、猶予期間は学位授与日から3ヶ月以内を記入すること。)

要旨公開可能日： 年 月 日